昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

粘虫雄蛾触角对其性信息素的电生理反应

汪新文* 刘孟英 吴才宏
(中国科学院动物研究所 北京 100080) (北京大学生命科学学院 北京 100875)

摘要 用自行组装的触角电位仪，测定了粘虫 *Mythimna separata* 雄蛾蛾龄对标准化合物顺-11-十六碳烯醛 (Z11-16:Ald)、顺-9-十六碳烯醛 (Z9-16:Ald) 和十六碳醛 (16:Ald) 的 EAG 反应的影响，分析了雄蛾触角对3种标准化合物的剂量-反应关系，发现粘虫雄蛾对 Z11-16:Ald 和 Z9-16:Ald 的剂量-反应曲线呈现出典型的"S"型，并且反应阈值较低。而对16:Ald 几乎没有反应。最为重要的是检测了粘虫雄蛾对雌蛾腺体提取物的 EAG 反应，反应值的大小与样品中所提取的雌蛾腺体数目成正比。通过检测粘虫雄蛾对羽化不同天数，以及同一天羽化、在暗期不同时辰提取的雌蛾腺体提取物的 EAG 反应，证实了粘虫雄蛾的反应曲线与雌蛾释放性信息素的时辰节律呈正相关。还比较了烟青虫和粘虫雄蛾对粘虫雌蛾腺体提取物的 EAG 反应，间接证实了粘虫雌蛾腺体提取物中可能含有次要组分 Z9-16:Ald。

关键词 粘虫，触角电位，性信息素

鳞翅目蛾类雌蛾性腺产生的性信息素，可以专一性地激活雄蛾触角毛形感器中的嗅觉感受细胞，引起雄蛾的趋向飞行和性行为。而且雄蛾触角上的性信息素感受细胞对性信息素组分的反应有很高的敏感性。这种特异性是通过对一系列化合物的剂量-反应曲线的比较而得到的[1]。

通过电生理学方法研究昆虫性信息素及其类似物的化学结构和活性关系，对于了解昆虫的行为及嗅觉机制是十分重要的[2]。一方面可以从大量化合物中，确定昆虫性信息素的候选化合物；另一方面用于鉴定昆虫腺体提取物中性信息素的活性组分。

我们用自行组装的触角电位仪，研究了粘虫 *Mythimna separata* 雄蛾蛾龄对标准化合物顺-11-十六碳烯醛 (Z11-16:Ald)、顺-9-十六碳烯醛 (Z9-16:Ald) 和十六碳醛(16:Ald) 的 EAG 反应的影响；分析了雄蛾触角对三种标准化合物的剂量-反应关系；检测了粘虫雄蛾对雌蛾性信息素分泌腺体提取物的 EAG 反应；比较了粘虫雄蛾对羽化不同天数，以及同一天羽化、在暗期不同时辰提取的雌蛾腺体提取物的 EAG 反应，证实了粘虫雄蛾的反应曲线与雌蛾释放性信息素的时辰节律呈正相关。同时，我们发现烟青虫 *Helicoverpa assulta* 雄蛾对粘虫雌蛾腺体提取物有明显的 EAG 反应，初步证实粘虫雌蛾腺体提取物中含有组分顺-9-十六碳烯醛。

* 现在中国科学院化学研究所博士后流动站
1995-06-08收稿，1996-11-22收修改稿

1 材料和方法

1.1 实验昆虫

实验采用的粘虫是由中国农业科学院植保所迁飞室提供的卵，在25℃，L:D=14h:10h 条件下孵化，按毕富春人工饲养方法饲养[3~4]。蛹期时将雌雄分开。羽化的粘虫雌蛾按羽化天数分装于纱笼中，并喂以5%～8%蜂蜜水。

1.2 粘虫触角电位（EAG）反应的条件

1.2.1 触角电位（EAG）测定的仪器和方法：触角电位检测仪是我们自己组装的仪器，结构类似于伍德明等报道[5]。包括 MEZ-8201微电极放大器，国产 SR76型示波器和上海自动平衡记录仪。净化气体的装置由阀门调节；刺激气体的开启由手动开关控制。EAG 测试条件选择主气流速度为600 mL/min～800 mL/min、刺激气体为1.5 mL/次～2 mL/次、主气流口离触角距离为2.5～3 cm、记录仪灵敏度为0.5 mV/cm、走纸速度为30 cm/min、刺激延时为1 s，刺激间隔取决于记录的峰是否恢复，前后两次的平均刺激不相差0.1 mV。

根据不同的实验要求，取羽化不同天数的粘虫雄蛾进行实验。用眼科剪剪下带触角的雄蛾头，固定在无关电极座中含有电生理盐水的脱脂棉上，再把测量电极套到已剪去顶端的触角上，进行 EAG 测定。测定时不同化合物的检测次序是任意的，对同一种化合物的不同浓度系列，刺激顺序是从低浓度到高浓度。为了监视触角随时间增长和刺激次数增加反应能力的变化，每测3～4个样品后，测一次空白（CK），计算结果时，样品的反应值减去相邻空白（CK）值就是触角对刺激物的净反应。在相同条件下，每个样品在同一根触角上平行测定4次，重复的雄蛾数为4只以上，取平行测定的平均值。

1.2.2 标准化合物的配制：将被测的标准化合物用正己烷配成一定的浓度，分别在带有 OV225（25 m）毛细柱，FID 检测器的 HP-5890A 气相色谱仪上检测纯度，并确定含量。加样时，把不同化合物的较准体积（校准到相同的量），分别加到0.5 cm×1.5 cm 的滤纸条上，装入不同的样品管中。为了避免样品间的交叉污染，每种化合物均由专用的微量进样器加入。空白样品中加入与样品等体积的重蒸正己烷。

在以上条件下，实验用的雄蛾触角，可在1 h 内保持较好的反应活性。

1.2.3 粘虫雄蛾蛾龄对 EAG 反应的影响：取同一批羽化的第3天，第5天，第6天，第7天，第8天，第9天的粘虫雄蛾4～5只，用100 ng 和1 μg 两个浓度的标准化合物 Z11-16:Ald，测定其 EAG 活性。

1.2.4 粘虫雄蛾对几种重要化合物的剂量-对应曲线：根据有关文献报道，我们对粘虫信息素提取分析的结果及 EAG 对不同结构化合物的筛选实验，确定 Z11-16:Ald、Z9-16:Ald 和16:Ald 属于我们所关心的重要化合物。将这些化合物用正己烷配成一定浓度的溶液，在 HP-5890A 气相色谱仪上测定纯度，并检测含量，然后配成空白(CK)、1 ng、10 ng、100 ng、1 μg 和10 μg 的浓度系列，进行 EAG 测定（重复4～6只雄蛾），并分别作出它们的剂量-反应曲线。

1.2.5　粘虫雄蛾对雌蛾性信息素腺体提取物的 EAG 反应：(1) 粘虫雄蛾对雌蛾性信息素腺体提取物的 EAG 反应：分别取粘虫雄蛾4只，对羽化第5天和第6天粘虫雌蛾的5个性信息素腺体提取物和10个腺体提取物，分别进行 EAG 测定。(2) 粘虫雄蛾对羽化不同天数雌蛾性信息素腺体提取物的反应：分别取粘虫雄蛾6只，对羽化后第2天到第9天的粘虫雌蛾的5个性信息素腺体提取物，进行 EAG 测定。(3) 雄蛾对同一天羽化、暗期不同时刻的雌蛾性信息素腺体提取物的 EAG 反应：分别取粘虫雄蛾4～6只，对羽化第5天的粘虫雌蛾，在暗期第3、5、7、9 h 和在光期提取的5个性信息素腺体提取物，进行 EAG 测定。

1.2.6　比较烟青虫和粘虫雄蛾对粘虫雌蛾性信息素腺体提取物的 EAG 反应：(1) 比较烟青虫和粘虫对几种标准化合物的剂量-反应关系：用正己烷配制浓度为空白 (CK)、50 ng、100 ng、1 μg、5 μg 和10 μg 的 Z11-16:Ald 和 Z9-16:Ald 的标准系列，在同样条件下，比较烟青虫雄虫和粘虫雄虫的剂量-反应关系。(2) 烟青虫和粘虫雄蛾对粘虫雌蛾性信息素腺体提取物 EAG 反应的比较：用烟青虫雄蛾4只，粘虫雄蛾2只，分别对同一批粘虫雌蛾羽化后第3天、第4天、第5天、第6天、第9天和第10天的5个性信息素腺体提取物，进行 EAG 测试。

2　结果与讨论

2.1　粘虫雄蛾蛾龄对 EAG 反应的影响

粘虫雄蛾羽化后第1天就对 Z11-16:Ald 有反应，比较羽化后前3天的粘虫，发现同样浓度的 Z11-16:Ald，EAG 反应有增加趋势。从图1可看出，羽化后第5天至第7天粘虫雄蛾，对两种浓度 Z11-16:Ald 的 EAG 反应并不随虫龄增加而有明显变化，而且用4至5个雄蛾重复实验，再现性也较好。第8天后，雄蛾 EAG 反应略有增加，但重复实验时，波动性较大。因此，我们在做 EAG 实验时，多采用羽化后第3天至第6天的粘虫雄蛾。

2.2　粘虫雄蛾对几种重要化合物的剂量-反应曲线

2.2.1　三种标准化合物的纯度和稀释液含量：为了保证所测化合物纯度、以及不同化合物加到滤纸条上的量相同，我们把 Z11-16:Ald、Z9-16:Ald 和16:Ald 进行毛细柱气相色谱检测，结果见表1；加样时，根据这三种化合物的含量分别用体积校准到相同水平 (10 ng/μL)。

2.2.2　三种化合物的剂量-反应曲线：从图2可发现，当 Z9-16:Ald 的含量比 Z11-16:Ald 高100倍以上时，才能达到 Z11-16:Ald 的反应强度。随着刺激剂量的增加，只有 Z11-16:Ald 和 Z9-16:Ald 感受器电位的平均幅度随着增加，但 Z11-16:Ald 引起的 EAG 反应远高于

表1　标准化合物的纯度和稀释液含量（正己烷）

化合物名称	纯度 (%)	含量 (ng/μL)	体积校准 (μL)
Z11-16:Ald	96	14.9	0.67
Z9-16:Ald	95	27.5	0.36
16:Ald	95	10	1.00

注：HP-5890A 气相色谱仪，OV225 25 m×0.22 mm，FID 检测器；平行测定3次，取平均值，以16:Ald 为标准，校准到相同水平，即10 ng/μL

Z9-16:Ald。Z11-16:Ald 反应阈值很低，在1～10 ng 浓度范围内就有反应；Z9-16:Ald，10～100 ng 浓度范围内开始有反应；16:Ald 几乎没有反应。从刺激物阈值浓度与最大 EAG 反应幅度关系中得出，具有最大 EAG 反应的化合物往往有最低的反应阈值，由于 Z11-16:Ald 活性最强，反应阈值最低，是粘虫性信息素的主要成分。除此之外，我们认为 Z9-16:Ald 可能是次要成分；而16:Ald，虽然在雌蛾腺体提取物中已检测到，但不具有 EAG 活性，可能是生物合成过程中的一种中间体。

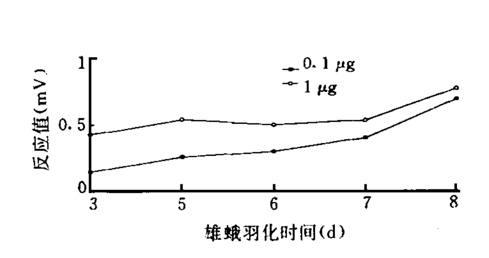


图1 粘虫雄蛾蛾龄对不同剂量 Z11-16:Ald 的 EAG 反应的影响

重复的雄蛾数 $N=6\sim8$

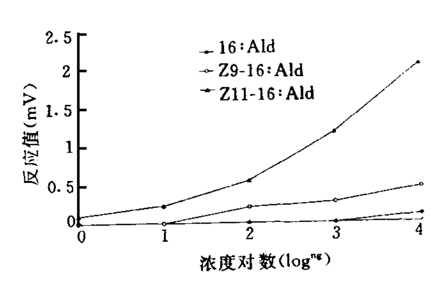


图2 三种标准化合物的剂量-反应曲线

粘虫雄蛾 $N=8$

2.3 粘虫雄蛾对雌蛾性信息素腺体提取物的 EAG 反应

粘虫雄蛾对雌蛾性信息素腺体提取物有明显的 EAG 反应，而且随着提取的雌蛾性信息素腺体数增加，EAG 反应值也增加（图3），从而证实粘虫雄蛾对性信息素的反应强弱与雌蛾腺体提取物中性信息素含量相关。同时，我们测定了粘虫雄蛾对同一批雌蛾、羽化后不同天数提取的腺体提取物的 EAG 反应。当时，这批雌蛾是在21℃，L:D=14h:10h 条件下饲养的，一部分提取物作 EAG 测定，同时提取一部分用毛细柱气相色谱测定组分的含量。从图4可看出，雄蛾对羽化后第6天至第7天的雌蛾提取物有最大 EAG 反应，与同样条件下，羽化后不同天数雌蛾腺体提取物中 Z11-16:Ald 含量变化规律基本一致[6]。在测定粘虫雄蛾对同一天羽化的雌蛾，暗期不同时刻的腺体提取物的 EAG 反应时，所采用的样品是在25℃，L:D=14h:10h 条件下饲养的粘虫雌蛾，羽化后第5个暗期的不同时辰提取的。从图5可发现，粘虫雄蛾对暗期第7 h 左右提取的腺体提取物反应最大。而我们观察的粘虫雌蛾，在同样条件下，求偶和释放性信息素的高峰期是羽化后第4～5天、暗期第7～9 h[6]。因此，粘虫雄蛾对雌蛾腺体提取物的 EAG 反应曲线与雌蛾释放性信息素的时辰节律呈正相关。

2.4 烟青虫和粘虫雄蛾对粘虫雌蛾性信息素腺体提取物 EAG 反应的比较

Struble 和 Arn[7]认为采用不同的昆虫触角来检测有类似组分的信息素系统，可提高 EAG 的选择性和灵敏度。Liu 等[8]已经确定烟青虫性信息素 Z9-16:Ald 是主要组成，Z11-16:Ald 是次要组分。而粘虫性信息素主要成分是 Z11-16:Ald，而 Z9-16:Ald 可能是次要组分之一。因此，为了确证粘虫雌蛾腺体提取物中 Z9-16:Ald 的生物活性，首先比较烟青

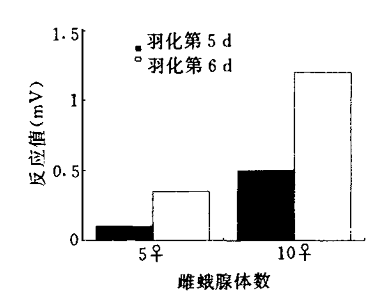


图3　粘虫雄蛾对雌蛾性信息素腺体提取物的 EAG 反应

重复雄蛾数 $N=4$

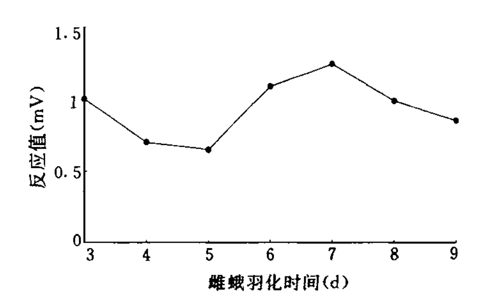


图4　粘虫雄蛾对羽化不同天数雌蛾性信息素腺体提取物 EAG 反应

提取的粘虫雌蛾饲养于21℃，L:D=14h:10h 条件下，重复雄蛾数 $N=6$

虫和粘虫雄蛾对标准 Z9-16:Ald 和 Z11-16:Ald 的反应，再检测它们对粘虫雌蛾提取物的反应。

从烟青虫雄蛾对 Z9-16:Ald 和粘虫雄蛾对 Z11-16:Ald 的剂量-反应曲线看出（图6），浓度对数与反应大小具有典型的"S"形关系，烟青虫雄蛾对 Z9-16:Ald 反应的最低浓度为 50 ng，而粘虫明显反应的最低浓度为5 μg。粘虫雄蛾对 Z11-16:Ald 反应的最低浓度为 50 ng，而烟青虫雄蛾明显反应的最低浓度大于100 ng。

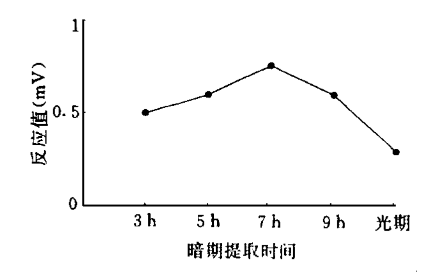


图5　粘虫雄蛾对不同时辰提取的性信息素腺体提取物的 EAG 反应

提取的粘虫雌蛾饲养于25℃，L:D=14h:10h 条件下；重复雄蛾数 $N=5$

在此基础上，我们比较了烟青虫雄蛾和粘虫雄蛾对粘虫雌蛾提取物的 EAG 反应。从图7可看出，烟青虫雄蛾对不同羽化天数粘虫雌蛾腺体提取物的 EAG 反应峰值出现在第5天～第6天，粘虫雄蛾对相同样品的 EAG 反应出现在第4天～第5天，两者的反应规律基本一致。而且反应峰值与我们所证实的粘虫信息素释放节律一致[6]。

综上所述，烟青虫雄蛾对粘虫雌蛾提取物有强反应，而烟青虫性信息素主要组分是 Z9-16:Ald，从而说明粘虫雌蛾提取物中含有 Z9-16:Ald 组分。否则，烟青虫雄蛾对粘虫雌蛾提取物不可能产生如此强的 EAG 反应。当然，单纯从昆虫的 EAG 反应或仅在腺体中检测到 Z9-16:Ald，尚不能完全确定它一定是粘虫性信息素系统中的一个组分，必须经过田间诱蛾试验后，才能得出最后的结论。

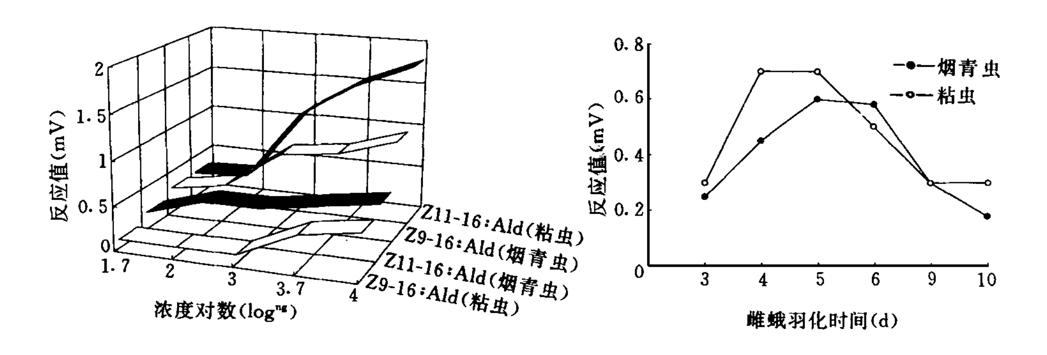


图6 烟青虫和粘虫对几种标准化合物剂量-反应曲线

烟青虫雄蛾 $N=6$；粘虫雄蛾 $N=3$

图7 烟青虫和粘虫雄蛾对粘虫雌蛾性信息素腺体提取物的EAG反应

烟青虫雄蛾 $N=4$；粘虫雄蛾 $N=2$

参 考 文 献

1 Kaissing K E. Sensor transduct in insect olfactory receptors. In：Jaenicke L ed. Biochemistry of Sensory Functions，Springer-Verlag Berlin，Heidelbeg，New York，1974，265～266

2 Mustaparta H. Reception of principal pheromone in three species of *Heliothine* moths. Insect Pheromone IOBC，1993，16 (10)：15～21

3 毕富春．粘虫的一种新人工饲料．昆虫学报，1981，24 (4)：379～383

4 毕富春．粘虫的简易人工饲料及防腐剂及其生长发育的影响．昆虫知识，1983，20 (6)：230～263

5 伍德明，崔君荣．大螟雄蛾触角对性外激素及其类似物的电生理反应．昆虫学报，1986，29 (3)：239～245

6 汪新文，刘孟英．粘虫雌蛾求偶周期和性信息素含量变化规律．昆虫学报，1997，40 (4)：428～431

7 Struble D L，Arn H. Combined gas chromatography and electroantennogram recording of insect olfactory responses. In：Hummel H E，Miller T A eds. Techniques in Pheromone Research. Springer-Verlag，New York，Berlin，and Heidelberg，1984，162～178

8 Liu M Y，Cai J P，Tian Y. Sex pheromone components of the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta* Guenée：Identification and field trials，Entomologia Sinica，1994，1 (1)：77～85

ELECTROANTENNOGRAM OF ORIENTAL ARMYWORM *MYTHIMNA SEPARATA* WALKER EXPOSED TO SEX PHEROMONE

Wang Xinwen　Liu Mengying

(Institute of Zoololgy, Chinese Academy of Sciences　Beijing　100080)

Wu Caihong

(College of Life Sciences, Peking University　Beijing　100875)

Abstract　Electroantennograms (EAGs) were obtained for *Mythimna separata* Walker exposed to the compounds (Z)-11-hexadecenal (Z11-16:Ald), (Z)-9-hexadecenal (Z9-16:Ald) and hexadecenal (16:Ald) as well as the female gland extracts. The EAG dose-response curves were significantly different among the three compounds, it indicated that male moths had the highest peak response to Z11-16:Ald, and very low response to 16:Ald. The male response profiles to the female gland extracts were increased by increasing the source concentration. And the maximum EAG response was consistent with the female calling period. A comparative study of the EAG responses between *Mythimna separata* and *Helicoverpa assulta* revealed that a minor sex pheromone component, Z9-16:Ald, probably existed in *Mythimna separata* female gland extracts.

Key words　*Mythimna separata*, electroantennogram, sex pheromone